



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Académico Profesional de Nutrición

**Efecto hepatoprotector del zumo del fruto de
Corryocactus brevistylus (Sanky) en ratones con daño
hepático inducido por etanol**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en Nutrición

AUTOR

Carolina Rocio LIPE CAMERO

ASESOR

Oscar Gustavo HUAMÁN GUTIÉRREZ

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Lipe C. Efecto hepatoprotector del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (Sanky) en ratones con daño hepático inducido por etanol [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Académico Profesional de Nutrición; 2016.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA
Escuela Académico Profesional de Nutrición



«Año de la consolidación del Mar de Grau»

ACTA DE EXAMEN DE TITULACIÓN
MODALIDAD DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Conforme a lo estipulado en el artículo 45 de la Ley Universitaria 30220, el **Jurado de Sustentación** nombrada por el Comité Asesor y la Dirección de la Escuela Académico Profesional de Nutrición, conformado por las siguientes Docentes:

Presidente: Dr. Segundo Teófilo Calderón Pinillos
Miembros: Mg. Elsa Bejar Camarena
Lic. Marita Lozano Cueva
Asesor: Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

Se reunió en la ciudad de Lima, el día viernes 01 de abril del 2016, para proceder a evaluar la **Sustentación de Tesis para Optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición**, a la Bachiller:

CAROLINA ROCIO LIPE CAMERO
Código de Matricula N° 10010398

Tesis: «EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL ZUMO DEL FRUTO DEL *Corryocactus brevistylus* (SANKY) EN RATONES CON DAÑO HEPÁTICO INDUCIDO POR ETANOL» (aprobado con R.D. N° 0939-D-FM-2014) La mencionada Bachiller aprueba el Examen, obteniendo la calificación:

Diecisiete

(en letras)

Estando de acuerdo con la presente acta, el Jurado de Sustentación, firma en señal de conformidad.

Dr. Segundo Teófilo Calderón Pinillos
Presidente

Mg. Elsa Bejar Camarena
Miembro



Lic. Marita Lozano Cueva
Miembro

AMRY/Glenda



Dedicatoria

Dedico el presente estudio a Dios Elohim, fuente de sabiduría y entendimiento, por darme entereza en mis momentos de flaqueza y la convicción de llegar a alcanzar todo lo que quiero.

A mis padres, René y Martha, mi motor y motivo, por su apoyo sin medida en los momentos buenos y malos, siendo pilares fundamentales en mi educación espiritual y profesional.

A mis grandes amigas, Joselyn y Lizbeth, y a todos quienes siempre han estado alentándome con palabras firmes para concluir esta tesis y nunca dejaron de creer en mí.

A ti, Jhon, por comprender que alcanzar uno de mis grandes sueños requería de algunos sacrificios y los aceptaste tiernamente.





Agradecimientos

A mi asesor el Mg. Oscar Huamán Gutiérrez por compartir no sólo conocimiento científico, sino lecciones y experiencias para formarme como una gran profesional y persona de bien.

A los miembros del jurado informante de la presente tesis: Dr. Segundo Calderón Pinillos, Mg. Elsa Bejar Camarena y Lic. Marita Lozano Cueva, por brindarme su apoyo a través de sus revisiones y correcciones para que esta tesis sea aprobada.

A mi alma máter, la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por acogerme y brindarme formación profesional, ética y moral para darme paso a un mundo lleno de oportunidades.





Agradecimientos

A la E.A.P. de Nutrición y a todos mis profesores, quienes son seres ejemplares y amantes de la docencia, en especial a mis asesoras de internado: Lic. Ana Higa Yamashiro y Lic. Marita Lozano Cueva.

A la Oficina de Registro de Actividades de Investigación (RAIS) del Vicerrectorado de Investigación de la UNMSM, por darme la oportunidad de financiar la presente tesis.

Al Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición Alberto Guzmán Barrón, y al Bioterio de la Facultad de Medicina de la UNMSM, donde se llevó a cabo la ejecución de la presente tesis.



RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto hepatoprotector del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) en ratones con daño hepático inducido por etanol. **Diseño:** Estudio analítico, transversal, prospectivo y experimental. **Lugar:** Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición Alberto Guzmán Barrón, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú, 2015. **Material Biológico:** 56 ratones albinos, machos, adultos, y zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky). **Métodos:** El fruto del sanky fue recogido del distrito de Puquina, provincia General Sánchez Cerro, región de Moquegua, en el mes de Julio. Se separó la pulpa del fruto y se obtuvo el zumo. Los ratones fueron distribuidos aleatoriamente en 7 grupos (n=8) a los que se administró por 5 días: (G-I) Suero fisiológico + agua ad libitum; (G-II) Suero fisiológico + etanol al 5% ad libitum; (G-III) Silimarina + etanol al 5% ad libitum; (G-IV) 1mL de zumo de sanky + etanol al 5% ad libitum; (G-V) 1mL de zumo de sanky + agua ad libitum; (G-VI) 10mL de zumo de sanky + etanol al 5% ad libitum; (G-VII) 10mL de zumo de sanky + agua ad libitum. **Principales medidas de resultados:** El nivel de lipoperoxidación expresado en sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs), y nivel de grupos sulfidrilos no proteicos (GS-NP); además se evaluó la hepatomegalia mediante el cálculo del Índice Hepático (IH). **Resultados:** La hepatomegalia fue mayor en el G-II ($6,37 \pm 0,69$ %), mientras que en los grupos tratamiento se obtuvo una reducción no significativa. Se observó una reducción del porcentaje de lesión por los niveles de TBARs, en los grupos tratamiento V y VII (-19,7 y -19,24 % respectivamente). Los mayores niveles de GS-NP se presentaron en los grupos tratamiento V y VI ($4392,43 \pm 354,04$ y $4897,26 \pm 796,09$ $\mu\text{g/mL/g}$ de tejido, respectivamente). **Conclusiones:** La administración del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) en ratones con daño hepático inducido por etanol, presenta efecto hepatoprotector a nivel de GS-NP. **Palabras claves:** hepatoprotección, *Corryocactus brevistylus*, alcohol, alimentos funcionales.

ABSTRACT

Objective: To determine the hepatoprotective effect of fruit juice *Corryocactus brevistylus* (Sanky) in mice with liver injury induced by ethanol. **Design:** Analytical, transverse, prospective and experimental study. **Location:** Research Center of Biochemistry and Nutrition Alberto Guzmán Barrón, Faculty of Medicine, National University of San Marcos, Lima, Peru, 2015. **The biological material:** 56 albino mice, male, adults, and juice from the fruit of *Corryocactus brevistylus* (Sanky). **Methods:** The Fruit of Sanky was collected Puquina district, province of General Sánchez Cerro, Moquegua Region in July. The fruit pulp is removed and the juice was obtained. Mice were randomized into 7 groups (n = 8) which was administered for 5 days (G-I) normal saline + water ad libitum; (G-II) Saline + 5% ethanol ad libitum; (G-III) Silymarin + 5% ethanol ad libitum; (G-IV) 1 ml of juice Sanky + 5% ethanol ad libitum; (G-V) 1 ml of juice Sanky + water ad libitum; (G-VI) 10 ml of juice Sanky + 5% ethanol ad libitum; (G-VII) 10ml juice Sanky + water ad libitum. **Main outcome measures:** The level of lipid peroxidation expressed in thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and level nonprotein sulfhydryl groups (NP-GS); in addition hepatomegaly it was evaluated by calculating the liver index (HI). **Results:** The hepatomegaly was mayor at the G-II ($6.37 \pm 0.69\%$), while in treatment groups was obtained a reduction no meaningful. A percentage reduction of the lesion was observed by the levels of TBARS, V and VII in treatment (-19.7 and -19.24% respectively) groups. The highest levels of GS-NP were presented at the V and VI Treatment Groups (4392.43 ± 354.04 and 4897.26 ± 796.09 g / ml / g tissue, respectively) **Conclusions:** Administration fruit juice of *Corryocactus brevistylus* (Sanky) in mice with liver injury induced by ethanol, it presents hepatoprotective effect one level GS-NP.

Keywords: Hepatoprotection, *Corryocactus brevistylus*, alcohol, functional foods.

CONTENIDO

I. INTRODUCCION	1
II. HIPÓTESIS / OBJETIVOS.....	11
2.1. Hipótesis	11
2.2. Objetivos	11
2.2.1. Objetivos generales	11
2.2.2. Objetivos específicos	11
III. METODOLOGÍA	12
3.1. Tipo de investigación (según de Argimón Pallás, 2004)	12
3.2. Materiales	12
3.2.1. Material biológico.....	12
3.2.2. Equipos e instrumentos	12
3.2.3. Drogas y reactivos.....	12
3.3. Unidad de análisis – Tamaño de muestra	13
3.4. Variables	13
3.4.1. Variable independiente:.....	13
3.4.2. Variable dependiente:.....	13
3.5. Operacionalización de variables.....	14
3.6. Plan de procedimientos.....	15
3.6.1. Lugar de ejecución	15
3.6.2. Recolección, identificación y preparación de la muestra	15
3.6.3. Condicionamiento y aclimatación de animales.....	15
3.6.4. Método de inducción.....	15
3.7. Determinación del indicador morfológico.....	17
3.8. Determinación de los metabolitos bioquímicos.....	18
3.8.1. Determinación de los niveles de lipoperoxidación (TBARs).....	18
3.8.2. Determinación de Grupos Sulfidrilos no proteicos (GS-NP).....	20
3.9. Análisis de datos estadísticos	22

3.10. Consideraciones éticas	22
IV. RESULTADOS	23
4.1. Del análisis estadístico	23
4.2. Índice del tejido hepático (IH)	23
4.3. Niveles de lipoperoxidación (TBARs)	24
4.4. Niveles de grupo sulfhidrilo no proteicos (GS-NP).....	25
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	35
6.1. Conclusiones	35
6.2. Recomendaciones	35
VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	36
ANEXOS:.....	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I.....	40
Sistemas enzimáticos de oxidación del etanol	
Anexo II.....	41
Características fisicoquímicas de la pulpa de Sanqui	
Anexo III.....	43
Flujograma del diseño experimental	
Anexo IV.....	44
Mecanismo de la peroxidación lipídica	
Anexo V.....	45
Acción del tocoferol sobre peróxidos lipídicos y su regeneración en presencia de ascorbato y glutatión reducido	
Anexo VI.....	46
Taxonomía del <i>Corryocactus brevistylus</i> (sanky)	
Anexo VII.....	47
Fotografías de la recolección del fruto <i>Corryocactus brevistylus</i> (sanky)	

I. INTRODUCCION

A nivel mundial las enfermedades hepáticas crónicas (EHC) constituyen una gran carga epidemiológica con repercusiones personales, sociales y económicas, debido al impacto negativo en la calidad de vida de quienes lo padecen¹. En los últimos 30 años se ha realizado un gran avance en el conocimiento y manejo de las enfermedades hepáticas, no obstante, la población europea con este tipo de enfermedades asciende a 29 millones, y se calculan que 170 000 muertes al año son atribuibles a la cirrosis hepática, de las cuales 47 000 estarían provocadas por el cáncer de hígado, siendo una de las principales causas de hepatopatía, el consumo excesivo de alcohol².

En España el 40% de alcohólicos presentan lesiones hepáticas y 15 - 20% desarrollan cirrosis hepática³ por lo que más de 5 500 trasplantes de hígado se realizan en Europa anualmente, y aunque el trasplante sea la mejor opción de recuperación para los pacientes cuya enfermedad hepática aguda o crónica es progresiva, o que representa una amenaza de vida; es muy difícil que el paciente vuelva a recuperar su situación económica anterior debido a los altos costos que se asumen para el tratamiento⁴.

Según últimos datos del Centro Latinoamericano y Caribeño de Demografía (CELADE), las enfermedades hepáticas se encuentran entre las veinte primeras causas de mortalidad, ya que por cada 10 000 habitantes se reportan 1 385 casos anuales⁵. En el Perú las enfermedades hepáticas ocupan actualmente el 6to puesto entre las principales causas de mortalidad, y ocupa el segundo lugar entre las patologías no transmisibles que sufren las personas de 30 a 59 años⁶, así también ocupan el 2^{do} lugar entre las enfermedades digestivas y hepatobiliares⁷. Por lo que se deben incentivar las investigaciones para establecer medidas preventivas y políticas nacionales que contribuyan a disminuir la prevalencia de esta enfermedad y minimizar sus consecuencias disminuyendo así costos económicos y sociales derivados de esta realidad⁷.

El alcohol etílico o etanol constituye un producto extraño para el organismo humano, capaz de generar toxicidad y muerte cuando es ingerido en cantidades excesivas y de forma paulatina⁸. El alcoholismo es un estado de

dependencia física y psíquica del individuo, que determina una serie de conductas dirigidas al consumo compulsivo y continuado del alcohol ⁹. Múltiples evidencias relacionan el abuso del alcohol con más de sesenta enfermedades, como la demencia, la pancreatitis, la cirrosis hepática (CH) o el síndrome de dependencia alcohólica, y otras más perjudiciales como tumores de cabeza y cuello, hepatocarcinomas (HCC), y cáncer de esófago, páncreas, mama y colorrectal ⁸. El alcohol incrementa el riesgo de estas enfermedades y lesiones de forma dosis dependiente, pues cuanto mayor es el consumo, mayores son los riesgos ¹⁰.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cerca de 3,3 millones de defunciones, es decir el 5,9% del total mundial, fueron atribuibles al alcoholismo ¹¹ y también que unos 320 000 jóvenes (15 y 29 años) mueren por causas relacionadas con el consumo de alcohol, lo cual equivale al 9% de las defunciones en ese grupo etáreo ¹². La Revista Peruana de Epidemiología menciona que la prevalencia de consumo de alcohol es de 87,2% en la población limeña y del 90% en estudiantes universitarios, una cifra deducible por tratarse de una droga legal frente a la cual no hay dificultad en expendirlo, y que además, resulta ser índice de buena educación el ofrecerlo en ocasiones sociales y de consumo obligado en momentos trascendentes de la vida, como matrimonios, graduaciones e incluso sepelios ^{13, 14}.

Según el *Informe sobre la Situación Mundial del Alcohol y la Salud*, publicado por la OMS en el 2014, señala que el Perú es el sexto país sudamericano con mayor consumo de alcohol *per cápita*, con 8,1 L ⁴. En nuestro país, el abuso y la dependencia al alcohol figuran como la tercera causa de pérdidas por muerte prematura o discapacidad, carga que es superada sólo por la neumonía y los accidentes de tránsito ¹⁷.

En la actualidad se denomina “hepatopatía alcohólica” (HPA) al espectro de lesiones a nivel del hígado provocadas por el etanol. En este concepto se incluyen tres síndromes evolutivos: la esteatosis hepática alcohólica (EHA), la hepatitis alcohólica (HA) y la cirrosis hepática alcohólica (CHA). Se trata de tres entidades anátomo-clínicas de las que la EHA representa la fase inicial, mientras que la HA y la CHA constituyen etapas más graves de la misma

enfermedad. Hoy en día se sabe que la EHA aparece en el 90% de los individuos que abusan del alcohol, un 10-35% de alcohólicos desarrollan HA y que solo el 8-20% llegan a desarrollar una CHA ⁸.

El hígado es la víscera de mayor tamaño del organismo, con un peso alrededor de 1 500 g en el adulto, se encuentra situado en el hipocondrio derecho, y anatómicamente interpuesto entre la corriente sanguínea que proviene del área esplácnica (fundamentalmente del intestino) y el resto del organismo. Este hecho ya anticipa su importancia fisiológica desde el punto de vista de la homeostasis nutricional. Está formado por dos lóbulos (derecho e izquierdo) en virtud de la división de los vasos sanguíneos aferentes a nivel del hilio hepático. En su parte inferior, se pueden distinguir otros dos pequeños lóbulos (el lóbulo cuadrado y el lóbulo caudado), las ramificaciones de las estructuras vasculares y de los conductos biliares subdividen cada uno de los dos lóbulos hepáticos mayores en cuatro segmentos ¹⁸. El hígado recibe irrigación de dos vasos: la arteria hepática, la cual transporta aproximadamente una tercera parte de la sangre y procede de la aorta; y la vena porta, la cual suministra las dos terceras partes restantes y recoge sangre del tubo digestivo ¹⁹.

El hígado es un órgano muy versátil que desempeña una función esencial para la mayoría de las funciones metabólicas del organismo y efectúa más de 500 tareas, entre las principales funciones del hígado están las siguientes:

Funciones vasculares: El sistema vascular del hígado es dinámico y actúa como un reservorio. Cuando se produce una disminución de la volemia, las reservas de sangre del hígado pasan a la circulación general, mientras que cuando la volemia aumenta se reserva sangre entre los sinusoides hepáticos²⁰.

Metabolismo de carbohidratos: Está encargado del mantenimiento de las concentraciones normales de glucosa en la sangre, según las necesidades: puede convertir glucosa a glucógeno cuando la glicemia es alta; y convierte el glucógeno a glucosa cuando existe un cuadro de hipoglicemia ²⁰.

Metabolismo de lípidos: El hígado tiene la capacidad de oxidar los ácidos grasos, para generar energía; y se encarga de sintetizar lipoproteínas para transportar material lipídico endógenos (triglicéridos y colesterol) ²².

Metabolismo de proteínas: Las reacciones de transaminación están catalizadas por transaminasas localizadas en el hepatocito: aspártico aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT), las cuales son abundantes en el corazón e hígado. Las proteínas plasmáticas también son sintetizadas en este órgano, como la albúmina y factores de la coagulación ^{21, 22}.

Funciones defensivas: Entre los sinusoides hay una gran cantidad de macrófagos denominados células de Küpffer, de gran actividad fagocítica ²⁰.

Detoxificación de metabolitos, hormonas y fármacos: El hígado puede detoxificar o excretar los fármacos biliares, mediante reacciones de modificación o inactivación de sustancias y reacciones de conversión de liposolubilidad a hidrosolubilidad para su eliminación mediante el sistema de citocromo ^{17, 18}.

Además, el hígado tiene la función de almacenar minerales como el hierro y vitaminas (A, B12, D, E y K). Y de secretar la bilis, el cual contiene bilirrubinas, colesterol, electrolitos y sales biliares ²⁰.

La mayoría de las afecciones hepáticas (dolor, insuficiencia, cirrosis, cólicos, litiasis, colecistitis, etc.) se originan por malos hábitos alimentarios, ingestión de sustancias xenobióticas entre ellas el abuso de bebidas alcohólicas, que tiene un papel fundamental perturbando las funciones hepáticas y fatigando el hígado hasta dañarlo ²³.

Tras la ingestión de etanol, su absorción empieza inmediatamente a través de la mucosa bucal y como vapor en los alveolos pulmonares. Sin embargo, la cantidad de etanol que es absorbido a través de estos dos sistemas es prácticamente despreciable, y se considera que todo el alcohol ingerido va al estómago y es absorbido por difusión simple a través del epitelio gástrico y de la primera porción del intestino delgado (duodeno y yeyuno), de manera que a los 5 minutos ya se detecta su presencia en sangre y su máxima concentración plasmática alcanzada alrededor de los 30 minutos ²⁴.

Una vez absorbido, el etanol entra por la vena porta, y atraviesa el hígado del que sale a través de la vena hepática hacia el corazón, el cual lo envía a los pulmones y, tras su retorno, alcanza la circulación periférica, y luego se

distribuye por todos los tejidos y fluidos del organismo ²⁴. El 10% del alcohol absorbido es eliminado por los riñones, la piel y los pulmones. El resto es metabolizado en el hígado, donde sufre dos procesos oxidativos que lo transforman primero en acetaldehído (AcH) y después en acetato. En el interior del hepatocito existen tres sistemas enzimáticos capaces de oxidar el etanol a AcH (*Ver Anexo I*):

Sistema de la vía alcohol-deshidrogenasa (ADH). Es la principal vía de oxidación del alcohol y se localiza en el citosol. La ADH es una enzima que utiliza la nicotinamida (NAD^+) como cofactor y, aunque el hígado es su principal localización, también está presente en el estómago, intestino delgado, riñón y cerebro. El exceso de $\text{NADH} + \text{H}^+$ desborda la capacidad de la célula de mantener un estado de oxidorreducción normal, dando lugar a numerosos trastornos metabólicos; entre ellos figuran la hiperlactacidemia, la acidosis, la hiperuricemia, la cetonemia y la hiperlipidemia ⁸.

Sistema microsomal oxidativo (MEOS). Está localizado en el retículo endoplásmico del hepatocito y es el mecanismo principal de adaptación en el alcoholismo crónico, cuando se encuentra saturada la capacidad de la ADH. El citocromo CYP2E1 es la fracción de este complejo inducible por el alcohol y su hipertrofia produce un exceso de radicales libres (anión superóxido O_2^- ; peróxido de hidrógeno H_2O_2 , radical hidróxilo OH^\cdot) y subsiguiente estrés oxidativo con daño hepatocitario ⁸.

Vía de la catalasa. Se localiza en los peroxisomas y mitocondrias de los hepatocitos y su papel en la oxidación del etanol es mínimo, limitado por la cantidad de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que genera esta reacción ⁸.

El acetaldehído es un compuesto reactivo altamente tóxico para los hepatocitos debido a que forma una variedad de aductos que promueven la disminución de glutatión, la peroxidación lipídica y el daño mitocondrial. El acetato que resulta de la oxidación del acetaldehído es rápidamente liberado del hígado a la circulación a través del ciclo de Krebs, en forma de acetil CoA principalmente en el músculo esquelético ²⁶.

La actividad del Ciclo de Krebs desciende, ya que depende del NAD^+ , a su vez,

las mitocondrias emplean los $\text{NADH}+\text{H}^+$ proveniente del etanol en lugar del procedente de la oxidación de ácidos grasos para generar energía, lo que origina una disminución de dicha oxidación y la acumulación de triglicéridos; por otra parte, el $\text{NADH}+\text{H}^+$ puede favorecer la síntesis de ácidos grasos, en la hepatopatía alcohólica de inicio asociada a la supresión del Ciclo de Krebs puede aparecer hipoglucemia, así como un descenso de la gluconeogénesis asociada al etanol ¹⁹.

El mecanismo por el cual el etanol produce daño al hígado es multifactorial, y en él participan, tanto los efectos dañinos del alcohol, como también factores de susceptibilidad individual ²⁵.

El hígado es el órgano que posee las concentraciones más altas de *glutathión* (GSH), un tripéptido hidrosoluble formado por los aminoácidos ácido glutámico, cisteína y glicina. Es un antioxidante celular esencial presente en todos los órganos y tejidos. Los hepatocitos son las únicas células que tienen la habilidad de utilizar metionina para la síntesis de GSH a través de la vía de la transulfuración, en la cual la metionina es convertida a cisteína y luego esta última es utilizada en la síntesis de GSH.³³ Una alta concentración de GSH en el hígado se relaciona con la función de este órgano en la detoxificación y eliminación de compuestos xenobióticos. La disminución en el contenido de GSH hepático resulta por una mayor susceptibilidad a la lesión hepática a través de la inducción de la peroxidación lipídica y $\text{TNF-}\alpha$ ²⁴.

Los radicales libres son átomos o moléculas con uno o más electrones no apareados en el último orbital, cuyo exceso daña el ADN y las proteínas esenciales para las células. Además, inician una reacción en cadena de peroxidación de los lípidos, que lleva al daño mitocondrial y a la muerte celular ²⁹. Durante el proceso de lipoperoxidación se forman aldehídos como el malonildialdehído y el 4-hidroxinonenal que, al igual que el AcH, activan al sistema inmunitario y estimulan la producción de citoquinas proinflamatorias por las células de Kúpffer (macrófagos hepáticos). Entre estas citoquinas hay que destacar al factor de necrosis tumoral α ($\text{TNF-}\alpha$), el cual desempeña un papel fundamental en la patogenia de la HPA al inducir apoptosis y necrosis ⁸.

Durante el metabolismo hepatocitario del alcohol se produce un exceso de radicales libres de oxígeno y una disminución de los agentes antioxidantes fisiológicos, lo que trae como consecuencia: un desequilibrio o estrés oxidativo²⁷. El hígado puede continuar eliminando alcohol paulatinamente, no obstante, esto va a significar que los hepatocitos se destruyan o se alteren por infiltración de grasa, produciéndose una esteatosis hepática alcohólica (EHA). Cuando presenta inflamación se conoce como hepatitis alcohólica (HA), y si presenta fibrosis (cicatrices extensas e irreversibles) se le denomina cirrosis hepática alcohólica (CHA)⁴.

La EHA suele ser asintomática y manifestarse solo por una hepatomegalia blanda e indolora. En ocasiones aparecen síntomas inespecíficos como náuseas o vómitos, astenia y molestia en el hipocondrio derecho. Las pruebas de laboratorio suelen ser normales, aunque no es raro encontrar un ligero aumento en el valor de la aspartato aminotransferasa (AST<100 U/L) y niveles elevados de gamma glutamiltranspeptidasa (GGT), volumen corpuscular medio de los hematíes (VCM), colesterol-HDL y de ácido úrico, pero estos parámetros se relacionan con el abuso de alcohol y no con la lesión hepática. Tampoco suelen encontrarse déficits nutricionales en esta fase de la HPA. La ecografía abdominal es una técnica de imagen muy útil para el diagnóstico de la EHA, ya que permite observar un hígado hiperecogénico “brillante”, que denota un depósito graso moderado o intenso. No es posible diferenciar mediante la ecografía aquellos pacientes que tienen, además de grasa, inflamación o fibrosis^{28, 8}.

Estudios recientes señalan que las terapias antioxidantes y un mayor consumo de dietas ricas en frutas o verduras con gran aporte en antioxidantes (vitamina C, vitamina E, fenoles, flavonoides, antocianinas, etc.) podrían prevenir o al menos disminuir el deterioro funcional orgánico originado por un exceso de estrés oxidativo, y reducir el riesgo a contraer enfermedades crónicas no transmisibles³⁰⁻³². Se considera a este tipo de dietas como las más saludables y viables³⁵.

Hoy en día, debido a los altos costos de los tratamientos de enfermedades hepáticas, la importancia del uso de alimentos preventivos, es decir, aquellos

que ofrecen la posibilidad de mejorar las condiciones físicas y mentales, así como de reducir el riesgo a contraerlos, forman parte de una alternativa muy importante a considerar, por la gran variedad de fitonutrientes ^{36, 37}.

Muchas enfermedades crónicas están relacionadas directamente con la nutrición y muchas podrían prevenirse con una dieta adecuada; por lo que el concepto de “nutrición adecuada” está siendo sustituido por el de “nutrición óptima”, el cual contempla la posibilidad de que algunos alimentos mejoren la salud de la población y reduzcan el riesgo de desarrollar determinadas enfermedades ³⁴. En un artículo descriptivo realizado por Adewusi *et al* (2010) informan de 107 plantas usadas en el tratamiento de las enfermedades hepáticas y concluyen que las plantas son una nueva alternativa en el tratamiento de las enfermedades hepáticas ³⁸.

Lozano *et al* (2014), señaló el efecto gastroprotector del *Corryocactus brevistylus* (sanky) a través de grupos tratamiento (1 – 10 mL/kg de dosis), los cuales mejoraron las defensas en el tejido gástrico al hallarse el incremento de mucus gástrico y GS-NP, y al disminuir la actividad péptica (secreción) y niveles de lipoperoxidación ⁴⁴.

Al evaluar la capacidad antioxidante del *Corryocactus brevistylus* (sanky) frente al estrés generado por el consumo de grasa termo-oxidada, se demostró que la administración del zumo de sanky vía orogástrica (4,3 mL/kg), disminuye la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) frente al estrés oxidativo ⁴³.

Sánchez y Sotomayor (2015) determinaron que la administración del zumo de tuna (*Opuntia ficus indica*) variedad morada, (5 y 10 mL/kg), redujo significativamente ($p < 0.01$) los niveles de TBARs y el % de índice hepático (IH) también fue menor, al compararlo con el grupo intoxicado con paracetamol (400 mg/kg) ³⁹.

Meenakshi *et al* (2014), determinó que el fucoidan aislado de algas *Turbinaria decurrens* (75 mg/kg de peso del animal), mejoró el estado antioxidante del grupo de ratas intoxicadas por etanol al 20% (7,9 g/kg/peso) x 45 días, al disminuir los niveles de marcadores de lipoperoxidación e incrementar significativamente los niveles de GSH ⁴².

El Perú es uno de los países con mayor biodiversidad en Sudamérica, lo que se refleja en el número de especies de cactus, frutas y plantas medicinales. La familia *Cactaceae* en el Perú comprende alrededor de 43 géneros y 250 especies, de las cuales aproximadamente el 80% (199 registros) son endémicas para el país. La familia *Cactaceae* es la séptima familia en cantidad de especies endémicas y la segunda en número de géneros endémicos, presentando la mayor abundancia de taxones endémicos ⁴⁵.

El estudio de los cactus peruanos estuvo prácticamente abandonado y a pesar de su importancia dentro de la flora endémica de nuestro país, aún existe la depredación de esta especie y su comercio ilícito. Con el presente estudio, se daría un paso más hacia el enfoque de revalorizar la diversa flora de nuestro país y a la vez, dar a conocer un tratamiento alternativo frente a las enfermedades hepáticas causadas por el consumo excesivo de bebidas alcohólicas ⁴⁶.

El sanky (*Corryocactus brevistylus*) pertenece a la familia de las *Cactáceas*, se señala que fue consumido por los mensajeros del Inca (chasquis) para recorrer 6 u 8 de horas de camino en los andes del Perú, y actualmente es reconocido por su alto contenido en potasio, dos veces más que el plátano, y por ser un fruto con alta concentración de antioxidantes como la vitamina C y antocinidinas; sin embargo, son escasos estudios de investigación acerca de este magnífico fruto ^{47, 48}.

Presenta tallos carnosos que alcanzan hasta 2-5 m de altura, ramificado libremente desde la base, formando grandes grupos, de color verde oscuros a verde claros-amarillentos. Florece diurnamente, flores amarillas, fragantes, 5-6 cm de largo x 10 cm de ancho; su fruto es una baya verde-amarillenta, redonda y jugosa, cuyo diámetro varía entre los 7 – 12 cm, con abundantes espinas; a sus frutos se les conoce como “sanky” o “sancayo”. Este fruto es de sabor ácido algo neutro, según el grado de madurez, es fácil de desprenderse de las espinas que lo cubre, en el interior se presenta una masa compacta de color blanco transparente mucilaginoso con numerosas semillas de color negro dispersos en toda la pulpa ⁴⁷.

Crece en parajes semidesérticos entre los 2500 y 3200 m.s.n.m. de la vertiente occidental de los andes, en suelos pobres, laderosos y pedregosos favorecidos por la humedad del ambiente y las lluvias temporales. La floración amarilla empieza en la primavera entre los meses de setiembre a diciembre, para luego fructificar en forma de bayas ovaladas de color verde oscuro hasta alcanzar el tamaño de una naranja entre los meses de mayo a setiembre que se comienza a consumirlo cuando su coloración ha cambiado a verde amarillo oro. La cantidad y calidad de la producción de esta fruta, varía cada año, según la cantidad de lluvias que se presenten en la estación de verano ⁴⁹.

En un estudio de Nolasco D, y Guevara A. se determinaron las principales características fisicoquímicas de la pulpa fresca de sanky (*Ver Anexo II*), siendo lo más relevante, su contenido calórico (17,6 kcal) el cual es menor al de otras frutas: manzana (56 kcal), plátano (85 kcal), por lo que puede ser incluido en las dietas hipoglúcidas; la acidez de 2,3% y el pH 2,7 ubican a esta fruta dentro de la denominación “ácida”, apropiada para bebidas donde la alta acidez contribuye como barrera en la conservación y evitar el crecimiento de bacterias dañinas; el contenido de vitamina C es de 57 mg% lo cual indica que el consumo de 100 g de sanky sería suficiente para satisfacer esta necesidad, y por ser rico en esta vitamina también contribuiría en la prevención de diversas enfermedades tales como: cardiovasculares, cancerígenas y neurológicas ⁵⁰.

Hasta la actualidad, no existen estudios que comprueben que el zumo del fruto del *Corryocactus brevistylus* (sanky) o de algún otro componente aislado de ella, tenga relación con el efecto hepatoprotector frente al daño inducido por la ingesta de etanol; por lo que basándonos en los antecedentes mencionados, se propuso realizar el presente estudio.

II. HIPÓTESIS / OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

La administración del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) presenta efecto hepatoprotector en ratones inducidos a daño hepático por etanol.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivos generales

- Determinar el efecto hepatoprotector de la administración del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) en ratones con daño hepático inducido por etanol.

2.2.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la administración del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) sobre la morfología hepática de ratones con daño hepático inducido por etanol.
- Determinar el efecto de la administración del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) sobre los metabolitos bioquímicos de ratones con daño hepático inducido por etanol.

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación (según de Argimón Pallás, 2004)

- Según la finalidad del estudio: Analítico
- Según la secuencia temporal: Transversal
- Por el control de la asignación de los factores de estudio: Experimental.
- Por el inicio del estudio en relación con la cronología de los hechos: Prospectivo.

3.2. Materiales

3.2.1. Material biológico

- Fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky)
- Ratones machos albinos (*Mus musculus*) de 4 semanas de edad y con peso promedio de $28,53 \pm 2,77$ g.

3.2.2. Equipos e instrumentos

- Homogeneizador Ultra - Turrax, modelo IKA-T10BASIC
- Centrifuga GREETMED, modelo GTT119-300
- Espectrofotómetro GREETMED, modelo NV203
- Balanza analítica, modelo RADWG® WTB200
- Estufa, marca Unic's®
- Extrator Óster 300 watts

3.2.3. Drogas y reactivos

- Ácido tricloroacético (TCA), marca Mallinckrodt AR®
- Ácido tiobarbitúrico (TBA), marca Merck KGaA®

- 5,5' - dithio - bis (2-nitrobenzoicoácido) 3 – carboxyl – 4 nitrophenil disulfide (DTNB) Ellman's Reagent, marca Sigma®
- Cloruro de Sodio 0.9%
- Ácido Etilen diamino tetra acético (EDTA), marca Merck KGaA®
- Alcohol absoluto
- Silimarina
- Glucosa anhidra, Farmacia Universal
- Pentobarbital Sódico, marca Montana S.A.

3.3. Unidad de análisis – Tamaño de muestra

Método de muestreo

Se emplearon 56 ratones machos los cuales fueron distribuidos aleatoriamente (al azar) en siete grupos de ocho animales cada uno.

3.4. Variables

3.4.1. Variable independiente:

- **Zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky):**

Se entiende al extracto sin fermentar, pulposo, turbio o clarificado, destinado a consumo directo, obtenido por procedimiento mecánico a partir de fruta madura y sana ⁵¹.

3.4.2. Variable dependiente:

- **Efecto hepatoprotector:**

Propiedad de proteger al hígado frente a los efectos nocivos de hepatotoxinas que se puede ingerir, o contrarrestar las alteraciones en el organismo de defensa antirradicalarios ⁵².

3.5. Operacionalización de variables

Variable	Dimensiones	Indicador	Categoría/ punto de corte	Escala de medición
<p>○ Variable independiente:</p> <p>Zumo del fruto de <i>Corryocactus brevistylus</i> (sanky)</p>		Administración del zumo del fruto de <i>Corryocactus brevistylus</i> (sanky) (mL/Kg de peso del ratón)	<ul style="list-style-type: none"> • Zumo a dosis de 1 mL /kg. • Zumo a dosis de 10 mL /kg. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cuantitativa de razón
<p>○ Variable Dependiente:</p> <p>Efecto hepatoprotector</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Morfológico 	<ul style="list-style-type: none"> • Índice hepático (IH) 	<ul style="list-style-type: none"> • Comparado con los grupos controles. 	<ul style="list-style-type: none"> • cuantitativa
	<ul style="list-style-type: none"> • Metabolitos bioquímicos del daño hepático 	<ul style="list-style-type: none"> • Niveles de lipoperoxidación mediante la prueba de TBARS 	<ul style="list-style-type: none"> • Comparado con los grupos controles. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cuantitativa de razón
		<ul style="list-style-type: none"> • Niveles de grupo sulfidrilo no proteicos (GS-NP) 	<ul style="list-style-type: none"> • Comparado con los grupos controles. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cuantitativa de razón

3.6. Plan de procedimientos

3.6.1. Lugar de ejecución

El estudio se realizó en el Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición Alberto Guzmán Barrón, y en el laboratorio 1 del Bioterio de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

3.6.2. Recolección, identificación y preparación de la muestra

Las pencas y el fruto maduro de sanky (*Corryocactus brevistylus*) fueron recolectados del distrito de Puquina, región de Moquegua, Perú. Una parte de la planta con hojas y flor fueron llevadas al Museo de Historia Natural de la UNMSM para la identificación taxonómica (*Ver Anexo VI*)

Para la obtención del zumo se tomaron frutos maduros de sanky (*Corryocactus brevistylus*) los cuales fueron debidamente limpiados, lavados, pelados y despulpados, y luego por medio de un extractor, se obtuvo el zumo. Este zumo fue colado por medio de un tamiz fino para refinar las partículas grandes; este procedimiento se realizó cada uno de los días de administración a temprana hora.

3.6.3. Condicionamiento y aclimatación de animales

Los ratones albinos machos (*Mus musculus*) fueron adquiridos del Centro de Producción de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) y colocados en jaulas para su aclimatación por una semana. Se mantuvieron en un ambiente con periodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, ambiente controlado de temperatura, consumo de agua *ad libitum* y alimento balanceado adquirido en el Centro de Producción de la UNALM. Además se controló el peso de los animales interdiariamente.

3.6.4. Método de inducción

Se empleó la técnica de inducción de hepatotoxicidad por etanol empleado por Sandoval *et al* (2008) ⁴¹. En el cual los grupos llevaron el siguiente

tratamiento por 5 días (*Ver Anexo III*):

Grupo I (Control -): Se le administró 10 mL/kg de suero fisiológico, peroral, y se llenó el frasco de bebedero con solución de glucosa al 5%, *ad libitum*. (*Ver Tabla I*)

Grupo II (Control +): Se le administró 10 mL/kg de suero fisiológico, vía peroral, y se llenó el frasco de bebedero con la solución de etanol al 5% + glucosa al 5%, *ad libitum*.

Grupo III (Estándar): Se administró silimarina a dosis 100 mg/kg, vía peroral, y se llenó el frasco de bebedero con la solución de etanol al 5% + glucosa al 5%, *ad libitum*.

Tabla I: Distribución de grupos según tratamiento

GRUPOS (n=7)	ADMINISTRACIÓN OROGÁSTRICA	FRASCO DE BEBEDERO
Grupo I	Suero fisiológico	Agua
Grupo II	Suero fisiológico	Etanol 5% + glucosa 5%
Grupo III	Silimarina 100 mg/kg en suero fisiológico	Etanol 5% + glucosa 5%
Grupo IV	Zumo 1mL/kg	Etanol 5% + glucosa 5%
Grupo V	Zumo 1mL/kg	Agua
Grupo VI	Zumo 10 mL/kg	Etanol 5% + glucosa 5%
Grupo VII	Zumo 10mL/kg	Agua

Grupo IV: Se administró el zumo de sanky a dosis de 1 mL/kg vía peroral, y se llenaron los frascos de bebedero con la solución de etanol al 5% +

glucosa al 5%, *ad libitum*.

Grupo VI: Se administró el zumo de sanky a dosis de 10mL/kg respectivamente, vía peroral, y se llenaron los frascos de bebedero con la solución de etanol al 5% + glucosa al 5%, *ad libitum*.

Grupo V: Se administró el zumo de sanky a dosis de 1 mL/kg respectivamente, vía peroral, y se llenaron los frascos de bebedero con solución de glucosa al 5%, *ad libitum*.

Grupo VII: Se administró el zumo de sanky a dosis de 10mL/kg respectivamente, vía peroral, y se llenaron los frascos de bebedero con solución de glucosa al 5%, *ad libitum*.

Concluido el período experimental, los animales de experimentación, fueron sometidos a un ayuno previo de 12 horas y posteriormente anestesiados con 0,04 mL de pentobarbital sódico (26mg/kg).

3.7. Determinación del indicador morfológico

- **Índice hepático (IH):** Se realizó laparotomía abdominal para extraer el hígado completo cortando los ligamentos y adherencias secundarias, el cual fue lavado en solución fisiológica de NaCl 0,9 g%, y secado con papel adsorbente para luego ser pesado en una balanza analítica. Luego se realizó la siguiente la fórmula para conocer la relación porcentual del peso del hígado del animal con respecto a su peso total:

$$\text{Índice hepático} = \frac{W_{\text{hígado}}}{W_{\text{animal}}} \times 100$$

$W_{\text{hígado}}$: Peso del hígado

W_{animal} : Peso del animal

Además se determinó el porcentaje de incremento del IH de los grupos tratamiento, en relación al IH del grupo I (Grupo -), con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de incremento} = \frac{IH_{Gtto} - IH_{G1}}{IH_{G1}} \times 100$$

IH_{Gtto}: Índice hepático del grupo tratamiento

IH_{G1}: Índice hepático del grupo 1

3.8. Determinación de los metabolitos bioquímicos

Para la determinación de los marcadores bioquímicos se identificó al lóbulo mayor y se seccionó una porción de aproximadamente 0,25 g. de tejido, conservándolo a una temperatura de 4°C para su posterior análisis bioquímico.

Luego se preparó un homogeneizado de hígado, para lo cual, se pesó 0,269 ± 0,025 g de tejido hepático y se homogenizó a un volumen final de 3 mL con buffer fosfato 0,01 mol/L pH 7,4.

3.8.1. Determinación de los niveles de lipoperoxidación (TBARs)

La determinación de los niveles de lipoperoxidación, es un indicador de lesión de los tejidos inducido por especies reactivas al oxígeno, que es medido por medio de las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs), se empleó el método de Buege y Aust (1978)⁵³ y modificado por Suárez (1995)⁵⁴.

Fundamento

Mediante la reacción de dos moles de ácido 2-tiobarbitúrico con una mol de malondialdehído (MDA), aldehído más significativo en dicha reacción, que es producto de la peroxidación de los ácidos grasos, principalmente de membranas, y que al reaccionar con el ácido tiobarbitúrico, forma un complejo coloreado (color rosado) con una absorción máxima a los 535 nm, la intensidad de esta coloración será proporcional al grado de oxidación de los ácidos grasos.

Protocolo

Para esta técnica se tomó 0,4 mL de homogenizado de hígado y se agregó 0,8 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 20% en un tubo con tapa, el cual fue sometido a ebullición por 10 minutos en baño María. Concluido el tiempo se retiró y enfrió con agua y se agregó 1,2 mL de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) al 0,67% en HCl 0,25 N, y se llevó a baño María hirviente por 20 minutos. Concluido este tiempo se retiró y centrifugó a 3 500 RPM por 15 minutos, la absorbancia del sobrenadante se midió en el espectrofotómetro a 535 nm. Para los cálculos se utilizó el coeficiente de extinción molar $1,56 \times 10^5 \text{ mmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ del complejo coloreado formado por el malondialdehído-tiobarbitúrico.

Los resultados se expresaron como nmol/g de peso de tejido húmedo y porcentaje de inhibición, mediante las siguientes fórmulas:

$$\left[\text{TBARs} \frac{\text{nmol}}{\text{mL}} \right] = \frac{\text{ABS} (\text{MP} - \text{Bl}) \times \text{Vrx} \times \text{VH} \times 10}{\epsilon \times \text{VHR} \times \text{Wc}}$$

ABS_{MP-BI}: Absorbancia de la muestra restado del blanco reactivo

VH: Volumen del homogenizado

Vrx: Volumen de la reacción

Wc: peso del tejido a homogenizar

VHRx: Volumen del homogenizado empleado para la reacción

ϵ : Coeficiente de extinción molar

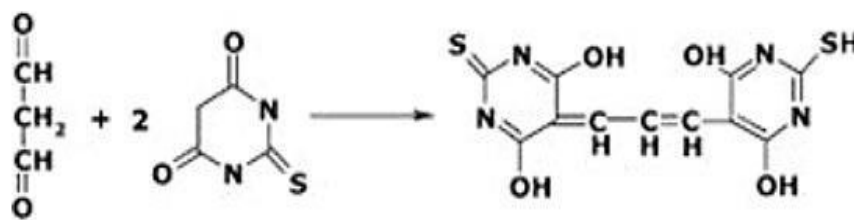


Figura 2: Reacción de 2 TBA con MDA que forma el complejo coloreado a 535nm. Analytical Methods for Resolving Data from TBA2-MDA Reaction Mixtures ⁵⁵

Posteriormente se utilizó la siguiente fórmula de porcentaje de inhibición para contrastar la magnitud de la lesión generada por el etanol.

$$\% \text{ de lesión} = \frac{IMP - IGC}{IGC} \times 100$$

IMP: índice de la media de la muestra problema

IGC: índice de la media del grupo control (grupo II)

3.8.2. Determinación de Grupos Sulfidrilos no proteicos (GS-NP)

La determinación de los niveles de GS-NP, es un indicador de protección antioxidante, siendo el glutatión (GSH) el componente mayoritario con grupo sulfhidrilo no proteico (95-98%), se aplicó el método de Sedlak y Lindsay (1968) ⁵⁶.

Fundamento

La oxidación de los grupos sulfidrilos por el ácido 5,5-ditiobis (2-nitrobenzoico) (DTNB), produce la formación de un mol de ácido 2-nitro-5-tiobenzoico (TNB), que fue leído a 412 nm.

Protocolo

Para esta técnica se tomó 1 mL del homogenizado en un tubo de centrifuga, 0,4mL de ácido tricloroacético (TCA) al 50% y 0,8 mL de agua, se mezcló y se reposó por 15 minutos, luego se centrifugó a 4000 rpm por 15 minutos. Se tomó 0,5 mL del sobrenadante y se agregó 2 mL de buffer TRIS 0,4 mol/L, pH 8,9 luego se añadió 0,025 mL de DTNB 0,01 mol/L y mezcló. Luego fue leído a 412 nm antes de los 5 minutos, y se procede a registrar las absorbancias, se expresa los resultados como $\mu\text{g GSH/mL/g}$ de tejido y porcentaje de incremento, el cual fue determinado por la siguiente formula:

$$GS-NP \mu g/g = \frac{FC \times (ABS_{MP-BL}) \times VH \times Vrxp \times VRf}{Wc \times Vsn}$$

FC: 65,676 $\mu\text{mol}\%$

ABS_(MP-BL): Absorbancia de la muestra problema restado del blanco reactivo.

VH: Volumen del homogenizado

Vrxp: Volumen de la reacción precipitante

VRf: Volumen de la reacción final

Wc: Peso del tejido cerebral

Vsn: Volumen del sobrenadante

Posteriormente se utilizó la siguiente fórmula de porcentaje de incremento para contrastar la magnitud de la producción de GS-NP

$$\% \text{ incremento} = \frac{IMP-IGC}{IGC} \times 100$$

IMP: índice de la media de la muestra problema

IGC: índice de la media del grupo control (grupo II)

3.9. Análisis de datos estadísticos

Luego de la ejecución del diseño experimental, los datos recogidos fueron ordenados y analizados. Los datos fueron ingresados a una hoja de cálculo en Microsoft Excel 2010, para ser procesados luego mediante el programa estadístico SPSS 19. Primero se realizó un análisis descriptivo expresado en promedios y desviación estándar.

Se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov - Smirnov (muestras mayores a 30) para contrastar la hipótesis de normalidad de la población. Luego se aplicó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) univariante entre sujetos para comparar medias de más de dos muestras independientes; asimismo, se realizó la prueba de Levene, en caso de varianzas similares. Para los resultados, se consideró como significativo $p < 0,05$, y finalmente, se compararon medias entre los grupos.

3.10. Consideraciones éticas

Para el presente estudio se tuvieron en cuenta las normas y procedimientos éticos para el manejo de animales de laboratorio establecidos según la Ley Peruana N° 27265 de la protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio, en el Título IV, de la experimentación e investigación y la docencia, se permite la experimentación para el estudio y el avance de la ciencia, cuando el mismo resulte necesario para el tratamiento de enfermedades que afecten tanto al hombre como a los animales y siempre que no se afecte la naturaleza del experimento o investigación, y se establecerán procedimientos para mitigar el sufrimiento del animal ⁵⁷.

IV. RESULTADOS

4.1. Del análisis estadístico

Se aplicó la prueba de Kolmogorov - Smimov, el cual determinó que los indicadores empleados fueron de distribución normal. Se utilizó la prueba ANOVA y posteriormente se aplicó la prueba Levene ya que las muestras resultaron con varianzas similares.

4.2. Índice del tejido hepático (IH)

La relación del peso del hígado/peso del animal (IH) fue mayor en el grupo II (6,37%), con un incremento de 34,12%, denotando hepatomegalia de manera significativa ($p=0,004$); mientras que el menor índice se presentó en el grupo I (Control -) con un porcentaje de 4,75%. (Ver Tabla II)

Además, se observa que el índice hepático de los grupos tratados sólo con sanky (V y VII) fue más bajo que los grupos tratados con sanky + etanol (IV y VI).

Tabla II: Índice Hepático (IH) según grupo de tratamiento.

Grupos	IH* (%)	% de Incremento
Grupo I	4,75 ± 0.65 ^a	-
Grupo II	6,37 ± 0.69	34,12
Grupo III	5,01 ± 0.70 ^b	5,66
Grupo IV	6,05 ± 0,74	27,49
Grupo V	5,75 ± 0,56	21,21
Grupo VI	6,28 ± 0,37	32,37
Grupo VII	5,60 ± 1,34	18,03

*Media ± DE (n=8)

(a) $p<0,01$ comparado con el grupo II

(b) $p<0,05$ comparado con el grupo II

ANOVA entre sujetos (varianzas similares).

4.3. Niveles de lipoperoxidación (TBARs)

Se puede observar que en el grupo II, se produjo un incremento significativo de los niveles de lipoperoxidación al compararlo con el grupo I ($p=0,032$), lo que evidencia una injuria causada por la administración de etanol. El grupo III también presentó un incremento de este marcador ($25,26 \pm 3,38$ nmol/g) aunque no representa una diferencia significativa. (Ver tabla III)

Los grupos tratados sólo con sanky (V y VII) fueron los que menor % de lesión obtuvieron ($-19,70$ y $-19,24$ nmol/g, respectivamente), encontrándose diferencia significativa del grupo V comparado con el grupo III (FHP). Los grupos tratados con sanky + etanol (IV y VI) presentaron los más altos % de lesión. En ambos grupos tratados sólo con sanky (V y VII), se demuestra que el % de lesión es mucho menor a los grupos tratados con sanky + etanol (IV y VI).

Tabla III: Lipoperoxidación (TBARs) en tejido hepático según tratamiento.

GRUPOS	Lipoperoxidación* (nmol/g de tejido)	% de lesión
Grupo I	$19,49 \pm 3,25^a$	-
Grupo II	$24,89 \pm 3,38$	-
Grupo III	$25,26 \pm 3,13$	1,50
Grupo IV	$30,59 \pm 3,63^{a,b}$	22,91
Grupo V	$19,98 \pm 1,39^b$	-19,70
Grupo VI	$28,17 \pm 3,91$	13,18
Grupo VII	$20,10 \pm 3,19^b$	-19,24

*Media \pm DE (n=8)

(a) $p<0,05$ comparado con el grupo II

(b) $p<0,05$ comparado con el grupo III

ANOVA entre sujetos (varianzas similares)

4.4. Niveles de grupo sulfhidrilos no proteicos (GS-NP)

En la tabla IV, se puede observar que la menor protección antioxidante por acción de los grupos sulfhidrilos no proteicos, se evidenció en el grupo que fue inducido a injuria por etanol (grupo II), sin embargo, no representa una diferencia significativa al compararlo con el grupo I ($p=0,165$).

En el grupo que se utilizó la Silimarina (grupo III) se pudo encontrar un 32,66% de incremento de los niveles de GS-NP al compararlo con el grupo II, pero este valor no representó diferencia significativa.

Mientras que, de los grupos tratados sólo con sanky, el grupo VI presentó la mayor cantidad de GS-NP ($4897,26 \pm 796,09 \mu\text{g/mL/g}$ de tejido), con el mayor % de incremento (96,68%), teniendo este valor diferencia significativa al comparar con el grupo II ($p=0,000$) y el grupo III ($p=0,010$).

Además, se observó que los grupos tratados con sanky + etanol (V y VII) también presentaron valores con diferencia significativa al contrastar con los grupos II y III ($p<0,01$).

Tabla IV: Grupos sulfhidrilos no proteicos (GS-NP) en tejido hepático según tratamiento.

Grupos	GS-NP [*] ($\mu\text{g/mL/g}$ de tejido)	% de incremento
Grupo I	3265,65 \pm 741,13	-
Grupo II	2489,94 \pm 381,58	-
Grupo III	3303,28 \pm 482,21	32,66
Grupo IV	3455,43 \pm 413,29 ^b	38,78
Grupo V	4392,43 \pm 354,04 ^{a,c}	76,41
Grupo VI	4897,26 \pm 796,09 ^{a,c}	96,68
Grupo VII	4354,01 \pm 610,56 ^{a,c}	74,86

*Media \pm DE (n=8)

(a) $p < 0,01$ comparado con el grupo II

(b) $p < 0,05$ comparado con el grupo II

(c) $p < 0,01$ comparado con el grupo III

ANOVA entre sujetos (varianzas similares)

V. DISCUSIÓN

Los andes del Perú son grandes centros de biodiversidad, en donde surgieron diversas culturas pre colombinas, el hombre andino convivió en estrecha relación con su medio y recursos, aprendiendo a manejar su entorno para obtener sus alimentos, vestimenta, vivienda y salud ⁵⁸.

En los últimos años, un 80% de la población mundial ha recurrido a las plantas medicinales para tratar diversas enfermedades o afecciones, ya que son accesibles, más baratos que los productos farmacéuticos ⁵⁹ y con menos probabilidad de intoxicación. En el Perú, la riqueza de las plantas medicinales es muy amplia y está enmarcada dentro de más de 4400 especies de usos conocidos por los pobladores locales, de las cuales un gran porcentaje se presenta en la región andina ⁶⁰.

Existe una gran variedad de frutas en el Perú que son aún poco conocidas y difundidas. Una de ellas es el “sanky”, fruto que crece en las vertientes occidentales de forma natural, de sabor ácido pero muy agradable, y que combinándolo con otras frutas exóticas, se obtienen productos con buenas características organolépticas y de importancia para la industria alimentaria.

La ingesta y abuso de bebidas alcohólicas provoca a largo plazo varios tipos de anormalidades en el hígado que van desde el hígado graso o esteatosis a esteatohepatitis, fibrosis, cirrosis y carcinoma hepatocelular; y aunque se ha progresado mucho en la comprensión de la patogénesis de la enfermedad hepática alcohólica (EHA), todavía no hay una terapia con fármacos ampliamente aceptada para cualquier etapa de la EHA, por lo tanto, los esfuerzos para entender su patogénesis, se centra principalmente en eventos que conduzcan a la identificación temprana del daño, con la esperanza de identificar objetivos terapéuticos que impidan su progresión ⁶¹.

En el alcoholismo, uno de los signos de alteración de la función del tejido hepático es el aumento del tamaño celular, que conlleva a un incremento en el volumen y peso del hígado, que se conoce como hepatomegalia.

Sandoval, et al (2008) confirmó en un estudio experimental con ratones, que existe un incremento del tejido hepático del 58,69% hasta después de 72 horas de consumo continuo de alcohol ($p=0.0021$)⁴¹. Esta diferencia en los pesos de los hígados de los animales tratados con alcohol, se atribuye a la formación de edemas y al aumento del estrés oxidativo causado por el alcohol. En el caso de nuestro estudio, el grupo etanol (II) evidenció una marcada hepatomegalia ($p=0,004$), con un crecimiento del 34,12% al compararlo con el grupo I (control -).

El alcohol etílico o etanol constituye un producto extraño para el organismo humano, capaz de generar toxicidad y muerte cuando es ingerido en cantidades excesivas. El acetaldehído es el producto de la primera oxidación del etanol en el organismo, considerado como el principal responsable de los efectos nocivos del etanol en el hígado, páncreas, estómago, corazón y cerebro. El acetaldehído es de 10 a 30 veces más tóxico que el etanol, es mutagénico y teratogénico, a causa de su capacidad de formar aductos con diversas moléculas, principalmente con proteínas^{8, 24}

La malnutrición es otro factor importante en el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica⁶², y se observó en un estudio realizado por Herrera *et al* (1999), que el consumo crónico de bebidas alcohólicas produce cambios significativos en el peso del hígado de las ratas por la presencia de inflamación, esteatosis intensa, apoptosis y necrosis, infiltrados leucocitarios, cuerpos de Mallory y megalomitocondrias⁶³. En otro estudio realizado por Meenaskshi *et al* (2014), se tomó el peso corporal de las ratas del grupo tratado con etanol al 20% (7,9 g/kg/peso) durante 45 días, antes y después del experimento, encontrando que existe una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo etanol⁴². Por lo que claramente se indica que el etanol produce cambios patológicos degenerativos a nivel del tamaño de los hepatocitos focales.

El método más usado para evaluar la lipoperoxidación, es la medición del malondialdehído (MDA), como sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico (TBARs).⁴¹ Los resultados en la tabla III muestran la lipoperoxidación por la prueba TBARs, donde el grupo etanol (grupo II) sufrió un incremento de TBARs

de $24,89 \pm 3,38$ nmol/g de tejido, es decir presentó un incremento de 27,7% de lesión a comparación del grupo I (control -).

La peroxidación lipídica o lipoperoxidación se produce por un mecanismo de tres etapas (ver anexo IV): la **iniciación**, en la que un radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, ocurre la abstracción de hidrógeno del grupo metileno (-CH₂-) unido a un carbono flanqueado por dobles enlaces de un ácido graso poliinsaturado, con la formación de una especie radicalica (radical alquílico: L·); la **propagación**, en la que ocurre una reacción en cadena con la extensión del daño y la formación de más especies radicalicas. La especie radicalica formada en la primera fase reacciona con el oxígeno y forma un radical peroxilo (LOO·) que puede reaccionar con otros ácidos grasos poliinsaturados adyacentes y originar un hidroperóxido o lipoperóxido (LOOH) y un radical alquílico; así se produce una reacción en cadena y el daño a un número creciente de ácidos grasos. El LOO· puede abstraer hidrógeno de moléculas con enlaces débiles como el OH cromanol del α -tocoferol y se producen una serie de reacciones en las que intervienen el ascorbato y el glutatión reducido que permiten la regeneración de la vitamina E (Ver anexo V). Y por último, la fase de **terminación** o descomposición, en la que hidroperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos reactivos y cetonas. Los aldehídos formados, como el malonildialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal, pueden reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos, lo que determina efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos, así como un papel patogénico en varias enfermedades⁷⁰.

Panda, et al (2012) encontró que la administración de etanol al 20% (5 g/kg/peso del animal) por 21 días en roedores, causa el incremento significativo ($p < 0,01$) de los niveles de MDA y una reducción significativa de los niveles de GSH ($p < 0,001$), al compararlo con el grupo control. Además de cambios histológicos como congestión de la vena central, abscesos graves, hemorragias, infiltración inflamatoria mononuclear, entre otros cambios degenerativos⁶⁵.

Meenaskshi *et al* (2014) demostró que la intoxicación con etanol al 20% (7,9 g/kg/peso) durante 45 días en ratas, eleva significativamente los marcadores de lipoperoxidación ($1,75 \pm 0,06$ moles/g) en comparación con el grupo control ($0,81 \pm 0,003$), asimismo los niveles de GSH disminuyen significativamente ($2,58 \pm 0,04$), versus el grupo control ($4,14 \pm 0,05$) ⁴².

Conde de la Rosa *et al* (2008), señala que el estrés oxidativo está implicado en el desarrollo de enfermedades hepáticas crónicas, y se desarrollan 2 mecanismos de defensa antioxidante: los de tipo enzimáticos y no enzimáticos. Entre los enzimáticos tenemos a la *superóxido dismutasa* (SOD), la *catalasa*, la *glutación-peroxidasa* y *glutación-reductasa*, y dentro de los mecanismos de defensa antioxidante no enzimáticos se encuentra al *glutación* (GSH), las *proteínas fijadoras de metales*, las *vitaminas* como la vitamina C (ascorbato), la E (α -tocoferol) y los carotenoides (precursores de la vitamina A) actúan como barreneros de radicales libres. Los tocoferoles y los flavonoides inhiben la peroxidación actuando como barreneros que rompen las cadenas de los radicales peróxilo (ver anexo V) ⁶⁴.

Por eso ante este estrés oxidativo, las células a nivel hepático aumentan sus sistemas de defensa estimulando la síntesis de glutación (GSH), ya que la alta concentración de GSH en el hígado se relaciona con la función de detoxificación y eliminación de compuestos xenobioticos ³³.

Los resultados del grupo etanol concuerdan con los estudios previos, al denotar un aumento en los niveles de TBARs y la disminución de los niveles de GS-NP, por lo que se puede entender que la toxicidad por etanol fue el causante del agotamiento de los antioxidantes hepáticos como el glutación ⁸.

En el grupo tratado con silimarina + etanol (grupo III) se presentó una reducción significativa del Índice Hepático (IH). No se observó variación significativa en los niveles de lipoperoxidación, y en cuanto al nivel de GS-NP, se presentó un incremento no significativo, al compararlo con el grupo II.

La silimarina es un flavonoide extraída del cardo mariano *Silybum marianum*, y a pesar que la silimarina se ha descrito como antioxidante, inmunomodulador,

antiproliferativo, antifibrótica y de actividad antiviral ⁶¹, su mecanismo de acción todavía no ha sido bien establecido. La silimarina se une a los receptores de la membrana del hepatocito, compitiendo con las sustancias tóxicas, produciendo un efecto estabilizador de membrana y de esta forma neutraliza a los radicales libres y estimula la regeneración de GSH ⁴¹.

Zhang *et al* (2013), demostró que la silimarina a dosis de 100, 150, 200 mg/kg, puede atenuar significativamente la lesión hepática provocada por el etanol, y su mecanismos puede estar relacionado con la reducción de peroxidación lipídica a través del barrido de radicales libres, o mediante la mejora de la actividad de los antioxidantes⁶¹.

Sin embargo Sandoval *et al* (2008) encontró que el tratamiento de silimarina (50 mg/100 g de alimento) más etanol 5% en el agua del bebedero, reduce no significativamente los niveles de lipoperoxidación ⁴¹.

Otro estudio realizado en Nigeria por Obogwu *et al* (2014) señala que el tratamiento con silimarina (50 mg/kg/peso) + etanol al 20% (5 g/kg/día), durante 21 días, reduce significativamente ($p < 0,001$) los niveles de MDA, al compararlo con el grupo etanol, sin embargo no se halló cambios significativos en los niveles de antioxidantes ($p > 0,05$) ⁶⁶.

Kiruthiga *et al* (2007), citado por Zhang *et al* (2013) informó que la administración de silimarina disminuye significativamente la peroxidación lipídica y el aumento endógeno de antioxidantes, tales como SOD, CAT y GSH. La silimarina es probablemente capaz de antagonizar el agotamiento de los dos principales mecanismos de desintoxicación: GSH y SOD, mediante la reducción de la carga de radicales libres, el aumento de los niveles de GSH y la estimulación de la actividad de SOD.

En cuanto a los grupos tratados sólo con sanky (V y VII) se observó una disminución no significativa del índice hepático (IH), no obstante cabe resaltar que los valores encontrados en los grupos de sanky + etanol (IV y VI) resultaron en ambos casos mayores. Esto se le atribuiría a la hepatomegalia

causada por la ingesta de etanol.

Contrariamente los grupos administrados con sanky + etanol (IV y VI) presentaron una elevación de los niveles de lipoperoxidación, incluso mayor al grupo etanol (II). Aunque se esperaba que la administración del sanky inhibiera la acción de los radicales libres producidos por el etanol, se observó un efecto pro-oxidante en estos 2 grupos.

Guija et al (2005), señala que el camu camu, es un fruto con un alto contenido de vitamina C, compuesto que el ser humano no lo puede sintetizar y necesariamente debe ingerirlo en su dieta. Esta vitamina es un eficiente antioxidante; pero, también puede actuar como un agente pro-oxidante cuando se administra en altas dosis, especialmente cuando está en presencia de elevadas cantidades de metales de transición, generando radicales hidroxilo ⁷³.

El hierro (Fe³⁺) es uno de los minerales de transición que nuestro hígado tiene por función almacenar, y está unido a una proteína, que es la ferritina, puesto que es muy oxidante. Dado que en los resultados se presentó un efecto pro-oxidante, podemos comprender que el sanky posee altas cantidades de un componente que al administrarse a una elevada concentración produce este efecto dañino ⁷³.

Los grupos tratados sólo con sanky (V y VII) presentaron una reducción significativa de los niveles de lipoperoxidación (TBARs) al ser comparados con el grupo silimarina (grupo III);

Obogwu et al (2014) ⁶⁶, citado anteriormente, encontró que los niveles de MDA de los grupos tratados con *Mucuna pruriens* (400 mg/kg/peso) + etanol al 20% (5g/kg/día), fueron mayores a los del grupo tratado sólo con *Mucuna pruriens* (400 mg/kg/peso).

Leelavinothan et al (2008) demostró que el grupo experimental tratado con *Vitis vinífera* (100mg/kg/peso) + etanol al 20%, presentaba una mayor cantidad de niveles de TBARs (0.86±0.08) y menor cantidad de GSH (38.16±2.91), en comparación con el grupo tratado sólo con *Vitis vinífera* a igual dosis. La diferencia en ambos resultados fue significativa ⁶⁷.

De igual modo señala Adaramoye *et al* (2011) comprobó el efecto hepatoprotector de la hoja de *Cnidioscolus aconitifolicus* (CA) al comparar los resultados favorables de MDA y GSH del grupo tratado sólo con CA, versus el grupo tratado con CA + etanol.

Por lo que se puede afirmar que, las terapias a base de alimentos funcionales (antioxidantes, vitamina C, vitamina E, fenoles, flavonoides, antocianinas, etc.), mejoran y previenen las consecuencias perjudiciales que provoca la ingesta elevada de etanol.⁶⁸

Ensayos fisicoquímicos de la pulpa del *Corryocactus brevistylus* (sanky) realizados por Nolazco *et al* (2009), señala una alta presencia de vitamina C (57mg%) de este fruto, incluso mayor a la naranja y carambola, 5566,4 ppm de potasio (aprox. el doble del plátano), lo que podría ayudar a mantener la presión osmótica celular, participando en la excitabilidad de la célula que activa una serie de enzimas en la glicolisis y cadena respiratoria⁵⁰.

Se encontró en el mismo estudio, que el *Corryocactus brevistylus* (sanky) posee 474,8 µg eq. Trolox/g de capacidad antioxidante, y se determinó también la presencia de azúcares reductores, lactonas, triterpenos-esteroides antocianidinas y mucílagos (*Ver Anexo II*).⁵⁰ Los triterpenos pertenecen a una clasificación de los terpenos, metabolitos secundarios a los cuales se les ha comprobado un papel gastroprotector, antisecretor, antiinflamatorio, inhibidor de la migración de células inflamatorias y actividad antirradicalaria⁷¹; y las antocianinas que son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. En un artículo de revisión realizado por Aguilera *et al* (2011), menciona que se ha demostrado que los frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y contra los radicales peróxido (ROO[•]), superóxido (O₂^{•-}) e hidroxilo (-OH)⁷².

Matos *et al* (2010) determinó la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del *Corryocactus brevistylus* (sanky), por medio del método del DPPH. Como resultado se obtuvo que la capacidad antioxidante del sanky fue

de 439,11 µg Trolox/g muestra, siendo mayor a los del ayrampo 149,9, uva 105,9 y fresa 132,8, pero menor que el aguaymanto (1066,28 g equivalente trolox/g de fruto).⁶⁹

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

- La administración del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) a dosis de 1 mL/kg y 10 mL/kg, presentó una disminución no significativa del Índice Hepático de los ratones con daño hepático inducido por etanol.
- La administración del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) a dosis de 1 mL/kg y 10 mL/kg, presentó un incremento no significativo de los niveles de lipoperoxidación (TBARs) de los ratones con daño hepático inducido por etanol.
- La administración del zumo del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky) a dosis de 1 mL/kg y 10 mL/kg, presentó un incremento significativo de grupos sulfhidrílos no proteicos (GS-NP) de los ratones con daño hepático inducido por etanol.
- Se puede concluir que la administración del zumo de *Corryocactus brevistylus* (sanky) ejerce un efecto hepatoprotector, según el indicadores bioquímicos de GS-NP, en ratones con daño hepático inducidos con etanol.

6.2. Recomendaciones

- Se recomienda realizar estudios histopatológicos del tejido hepático con la tinción de Hematoxilina eosina y Rojo de Congo.
- Realizar pruebas de capacidad antioxidante en in vitro del zumo de fruto y hoja del *Corryocactus brevistylus* (sanky).
- Realizar la cuantificación enzimática antioxidantes: Superóxido dismutasa, catalasa y otras sustancias como glutatión reducido y glutatión oxidado.

VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Planas R. Salmerón J. Enfermedades hepáticas. Publicaciones Permanyer. Barcelona, 2007.
2. Blachier M, Leleu H, Peck M, et al. The burden of liver disease in Europe: a review of the available epidemiological data. *Journal of Hepatology*. 2013; 58: 593-608.
3. Fattorusso V, Ritter O. Vademécum clínico del diagnóstico al tratamiento. 9 Ed. Argentina: El Ateneo; 2003.
4. Burgos V, Amador A, Ballesteros B. Calidad de vida en pacientes con transplante de hígado. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia; 2005.
5. Panorama Social de América Latina. Centro Latinoamericano y Caribeño de Demografía (CELADE). 2013. Enlace: http://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/35904/S2013868_es.pdf?sequence=1
6. Aumentan casos de enfermedades hepáticas en Lima. *Diario El Comercio*. 25 abril 2015. Enlace: <http://elcomercio.pe/lima/ciudad/aumentan-casos-enfermedades-hepaticas-lima-noticia-1806726>
7. Bustíos C, Dávalos M, Román R, Zumaeta E. Características epidemiológicas y clínica de la cirrosis hepática en la Unidad de Hígado del HNERM. *Rev Gastroenter Perú*, jun 2007; 27:238-245.
8. Montoro M, García J. Gastroenterología y Hepatología. 2da ed. Castells A, Gomollón F, Mearin F, editores. 2012, pp.799-814.
9. Díez I. La influencia del alcohol en la sociedad. *Osasunaz*. 2003; 5:177-190.
10. Anderson P, Gual A, Colon J. Alcohol y atención primaria de la salud. OPS, 2008.
11. Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe sobre la Situación Mundial sobre el Alcohol y la Salud, 2014.
12. Ministerio de Salud. Dirección General de Epidemiología. Boletín epidemiológico, Lima: 21(38).
13. Zavaleta A, Vargas V. Epidemiología de drogas en la población urbana peruana 2005. Centro de Investigación y Educación para la Prevención del Abuso de Drogas (CEDRO), 2005.
14. Cabanillas W. Magnitudes del consumo de tabaco en el Perú. III Encuesta Nacional de Consumo de Drogas en Población General de Perú (DEVIDA), 2007.
15. Musayón Y, Asmad C, Musayón J. Muerte prematura por consumo de alcohol:

- Estimaciones basadas en datos del Instituto de Medicina Legal. Rev enferm Herediana. 2010; 3(2): 72-81.
16. Harris C. El problema del alcohol. Revista Perspectivas de Salud - OPS. 2005; 10 (1).
 17. Velásquez A. Carga de enfermedad y lesiones en el Perú y las otras prioridades del plan esencial de aseguramiento universal. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2009; 26 (2): 222-231.
 18. Gil A. Tratado de Nutrición. 2da ed. Madrid: Médica Panamericana; 2010 pp.723.
 19. Mahan K, Escott -Stump S, Raymond J. Krause Dietoterapia. 13a ed. Barcelona: Elsevier Inc; 2013.
 20. Rodríguez M. ANATOMÍA - Fisiología e Higiene. 6a. ed. México, D.F. Progreso, 1995; pp.162-165.
 21. Mathews C, Holde K. Biochemistry. Benjamin Cumming's Pub Co; 2º ed. 1995.
 22. Granados J, Sobenes P. Efecto hepatoprotector de EDTA y selenato de sodio en un modelo de daño hepático crónico en ratones. Antiguo Cuscatlán; 2010. pp.13-14
 23. Osorio D. Efecto hepatoprotector del extractor de las hojas de alcachofa (*Cynaras colymus*) en ratas con hepatotoxicidad inducida por tetracloruro de carbono. Riobamba; 2012.
 24. Martinez S. Distribución de las alcohol deshidrogenasas ADH1 y ADH4 en tejidos de rata (Tesis doctoral) Bellaterra: Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Ciencias; 2002.
 25. Pérez-Carreras M. Hepatopatía alcohólica. Patogenia. GH Continuada, 2007; 6:1-7.
 26. Tagle M, Bussalleu A. Avances en Hepatología. Universidad Peruana Cayetano Heredia, 2012. pp.142-162.
 27. University of Michigan. ¿Qué es el estrés oxidativo? Environmental health Fact Sheet, Michigan; 2012.
 28. Moreira V, López A. Hepatopatía alcohólica. Revista Española de Enfermedades Digestivas. 2005; 97(7) 530.
 29. Sanchez V, Méndez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Rev Invest Med Sur, Mexico: 2013, 20(3):161-168.
 30. Morón C, Schejtman A. Evolución del consumo de alimentos en América Latina. FAO, 1996.
 31. Elejalde J. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An Med Interna, Madrid; 2001, 18(6):326-335.

32. Gutierrez E, Gómez F, Veiga P. Efectos de los antioxidantes en la prevención de patologías cardiovasculares. Universidad Alfonso X El Sabio; Madrid, 2006.
33. Denzoin L. Soraci A. Tapia M. Homeostasis del glutatión. Acta Bioquím Clín Latinoam 2013; 47 (3): 529-39
34. Alimentos Funcionales. Instituto de Nutrición y Transtornos alimentarios (INUTCAM). Madrid, 2012.
35. Rojas J. Estudio preclínico y clínico de la seguridad y actividad antihipertensiva de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá). Fac Farmacia y Bioquímica, Lima; 2009.
36. Alimentos funcionales. European food information council (EUFIC). 2003
37. Fitonutrientes. Revista Nutrilite. Jul, 2005.
38. Adewusi E, Afolayán J. A review of natural products with hepatoprotective activity. Journal of Medicinal Plants Research. 2010 jul, vol 4(13) 1318-1334.
39. Sánchez C, Sotomayor G. Efecto hepatoprotector del zumo de fruta de la *Opuntia ficus* (tuna), variedad morada, en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Fac de Med. Lima, 2015.
40. Yi-Wei C, Yun J, Da-Yong Z, Xiao-Jing Z, Yuan-Jia H, Peng L, et al. El efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Penthorum chinense* Pursh contra la lesión hepática aguda inducida por el alcohol se asocia a mejorar la esteatosis hepática y reducir el estrés oxidativo. Food Funct. 2015 May; 6(5):1510-7.
41. Sandoval M, Lazarte K, Arnao I. Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva). An Fac med. 2008; 69 (4): 250-9.
42. Meenakshi S, Umayaparvathi S, Saravanan R, Manivasagam T, Balasubramanian T. Hepatoprotective effect of fucoidan isolated from the seaweed *Turbinaria decurrens* in ethanol intoxicated rats. International Journal of Biological Macromolecules. 2014 (67): 367–372.
43. Alderete H, Chuco L, Dominguez P, Hualán L, Olazabal G, Quintana R, et al. Efecto de *Corryocactus brevistylus* sobre las ratas con estrés oxidativo inducido con administración por vía oral de grasa de res. Fac Farm y Bioq, Lima; 2015.
44. Lozano M, Huamán O, Sandoval M. Efecto del zumo del fruto *Corryocactus brevistylus* (sanqui) sobre el tejido y secreción gástrica de ratas. An Fac med. 2014; 75 Supl 1.
45. De La Cruz L. y cols. Morfología polínica de cinco especies de la subfamilia cactoideae (fam: Cactaceae), del departamento de Lima. The biologist (Lima), 2013, 11(1).
46. Ostolaza C, Kiesling R. 101 Cactus del Perú. Ministerio del Ambiente. 2011.
47. Recuperación del servicio ambiental a través de la especie *Corryocactus*

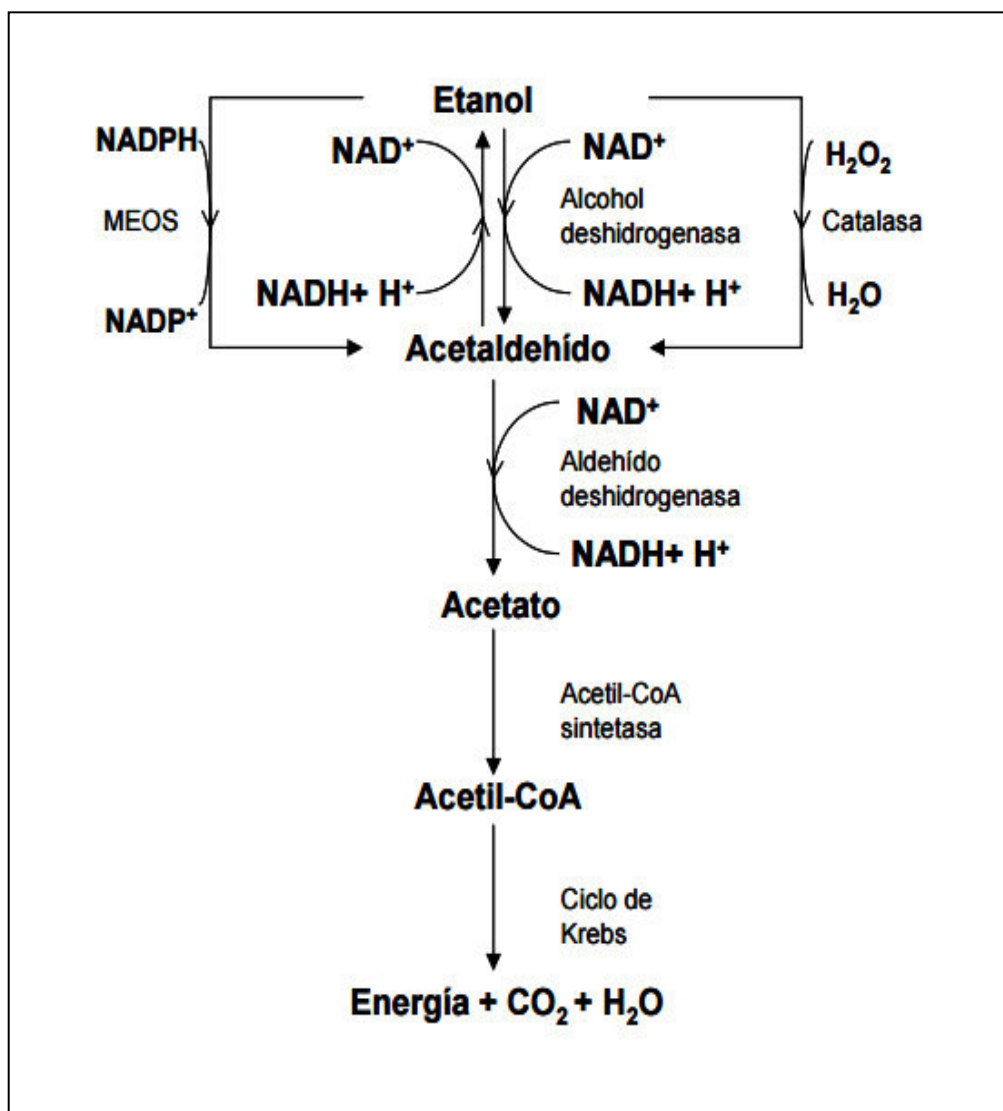
- brevistylus* (sanky), Provincia de Castrovirreyna y Huaytara. Gobierno Regional de Huancavelica. Dic, 2011.
48. Sanky, Cactacea andina de alto valor antioxidante. Rev Gaceta Molinera – UNALM. Sep 2006.
 49. Bazán L. Estudio del sanky. Instituto de Educación Superior Tecnológico de la Clínica Ricardo Palma; 2008.
 50. Nolzco D, Guevara A. Estudio de las principales características fisicoquímicas y comportamiento del Sanqui (*Corryocactus brevistylus sub sp. puquiensis* (Rauh & Backeberg) Ostolaza) en almacenamiento. An cient UNALM. 2009; 70(4).
 51. Norma General del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas. Lima-Perú, 2005.
 52. Hevia F, Wilckens, Berti M, Fisher S. Calidad de Cardomariano (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) Cosechado en diferentes estados fenológicos. Inf. Tecnol. 2007; 18 (5): 69-74.
 53. Buege J. Aust S. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymology.1978; 52: 302-306.
 54. Suarez S. Detoxificación hepática y defensa antioxidante por efecto de xenobióticos alimentarios [Tesis de Maestría en Bioquímica]. Facultad de Medicina, UNMSM. Lima, Perú.1995.
 55. Analytical Methods for Resolving data from TBA2 - MDA Reaction Mixtures. Enlace: <https://www.nwlifescience.com/products/assaykit/tba-mdanalysis.htm>
 56. CYTED/CNP. Metodos de avaliação da actividade e farmacológica de plantas medicinais. 2º ed. Rio de Janeiro: CYTED/C NP; 2001.
 57. Ley de la protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio. Ley Peruana Nro. 27265 /2000.
 58. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, Callalli M, et al. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. Rev. Perú. biol. 2011; 18(3): 283 – 291.
 59. UICN-OMS-WWF. Directrices sobre Conservación de plantas medicinales. Organización Mundial de la Salud (OMS). Unión internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) and World life Fund (WWF), Gland. 1993; pp 55.
 60. Brack, A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Centro Bartolomé de las Casas, Cuzco. 1999; pp. 550.
 61. Zhang W, Hong R, Tian T. Silymarin's Protective Effects and Possible

- Mechanisms on Alcoholic Fatty Liver for Rats. Journal Biomolecules and Therapeutics. 2013; 21(4), 264-269.
62. Bosma A, Seifert WF, Van Thiel-de Ruiter GCF. Alcohol in combination with malnutrition causes increased liver fibrosis in rat. Jour Hep. 1994; 21:394-402.
63. Herrera B, González B, Céspedes M, Sánchez G. Efectos del alcoholismo crónico sobre el hígado de ratas albinas adolescentes. Rev Cubana Invest Biomed.1999; 18(3):189-96.
64. Conde de la Rosa L, Moshage H, Nieto N. Estrés oxidativo hepatocitario y hepatopatía alcohólica. Rev Esp Enferm dig. 2008; 100 (3): 156-163
65. PANDA V, ASHAR H, SRINATH S. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Garcinia indica* fruit rind in ethanol induced hepatic damage in rodents. Interdisciplinary Toxicology. 2012; 5(4): 207–213
66. Obogwu M, Akindele A, Adeyemi O. Hepatoprotective and in vivo antioxidant activities of the hydroethanolic leaf extract of *Mucunapruriens* (Fabaceae) in antitubercular drugs and alcohol models. Chin J Nat Med. 2014; 12(4): 273–283.
67. Leelavinothan P, Arumugam S. Effect of grape (*Vitis vinifera* L.) leaf extract on alcohol induced oxidative stress in rats. Food and Chemical Toxicology. 2008; (46): 1627–1634.
68. Adaramoye O, Aluko A, Oyagbemi A. *Cnidioscolus aconitifolius* Leaf Extract Protects against Hepatic Damage Induced by Chronic Ethanol Administration in Wistar Rats. Journal Alcohol and Alcoholism. 2011; 46 (4): 451–458.
69. Matos A, Paredes J, González L. Determinación de la Capacidad Antioxidante de los Compuestos Fenólicos del Sancayo (*Corryocactus brevistylus*). Rev Invest Cienc Tecnol Aliment. 2010; 1 (1): 66-71.
70. Céspedes E, Castillo J. La peroxidación lipídica en el diagnóstico del estrés oxidativo del paciente hipertenso. ¿Realidad o mito? Rev Cubana Invest Bioméd. 2008; 27 (2).
71. Huamán O, Sandoval M, Arnao I, Béjar E. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote), en ratas. An Fac med. 2009; 70 (2): 97-102.
72. Aguilera M, Reza M, Chew R, Meza J. Propiedades funcionales de las antocianinas. Rev Biotecnia. 2011;13 (2): 16-22.
73. Guija H, Troncoso L, Guija E. Propiedades prooxidantes del camu camu (*Myrciaria dubia*). An Fac Med Lima 2005; 66(4): 261-268.
-

ANEXOS:

Anexo I:

Sistemas enzimáticos de oxidación del etanol



Anexo II

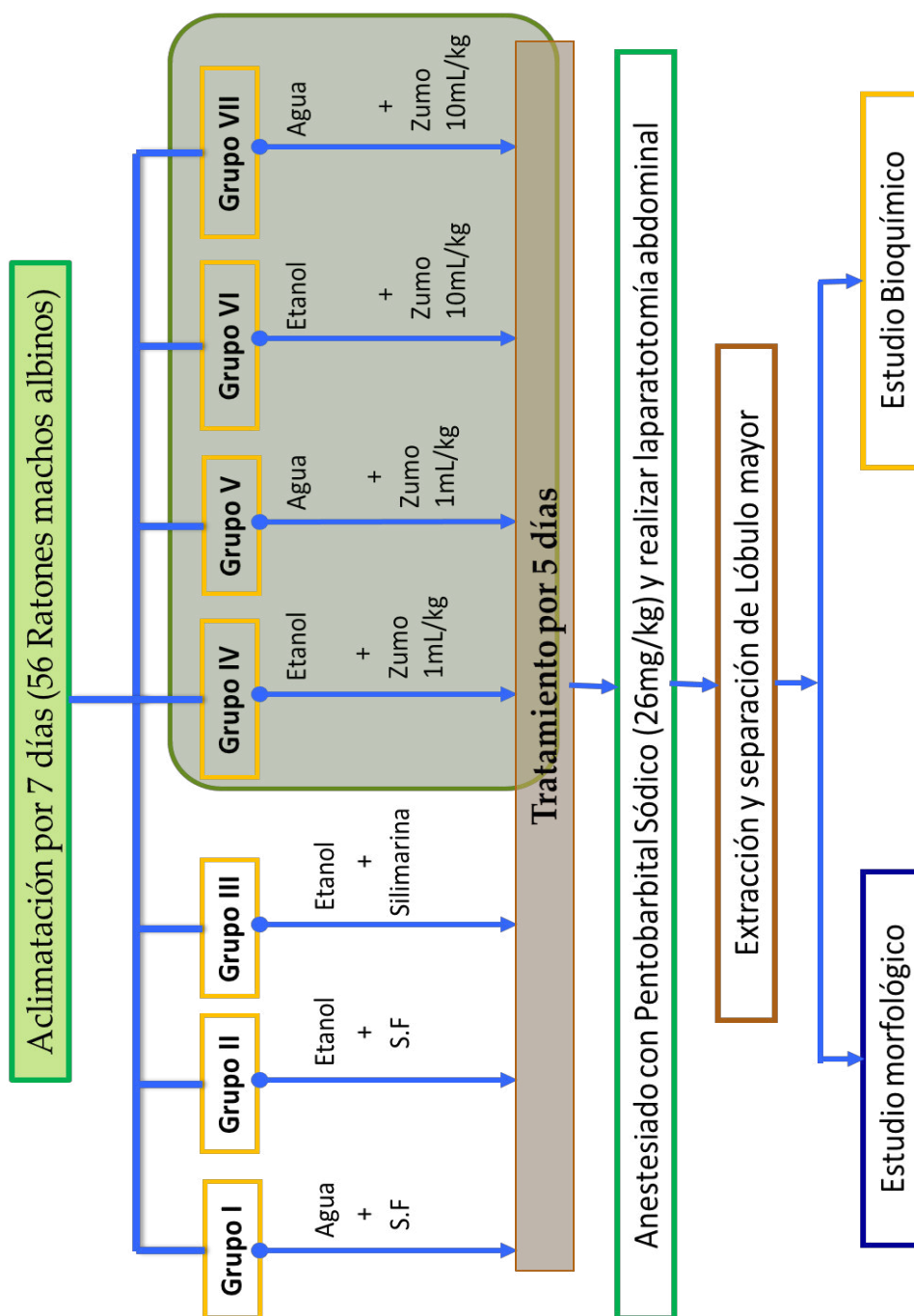
Características fisicoquímicas de la pulpa de Sanqui

Ensayos	Resultados
Humedad (g./100 g. de muestra original)	95,2 %
Cenizas (g./100 g. de muestra original)	0,4 %
Proteínas (g./100 g. de muestra original)	1,3 %
Grasa (g./100 g. de muestra original)	0
Carbohidratos (g./100 g. de muestra original)	3,1 %
Fibra (g./100 g. de muestra original)	0,9 %
Energía total (kcal/100 g. de muestra original)	17,6
Vitamina C (mg/100 g. de muestra original)	57,1
Capacidad antioxidante (µg eq. Trolox/g.)	474,8
Calcio (ppm)	104,5
Potasio (ppm)	5566,4
Fósforo (ppm)	128,0
Magnesio (ppm)	145,0
Acidez (g./100 g. de muestra) (expresado como ácido cítrico)	2,3
pH	2,7
°Brix	2,9
Marcha Fitoquímica	
Azúcares reductores	Presencia
Lactonas	Presencia
Triterpenos-esteroides	Presencia
Antocinidinas	Presencia
Mucílagos	Presencia

Alcaloides	Ausencia
Taninos	Ausencia
Flavonoides	Ausencia
Saponinas	Ausencia
Catequinas	Ausencia
Resinas	Ausencia
Aminoácidos	Ausencia
Quinonas	Ausencia
Cardenólidos	Ausencia

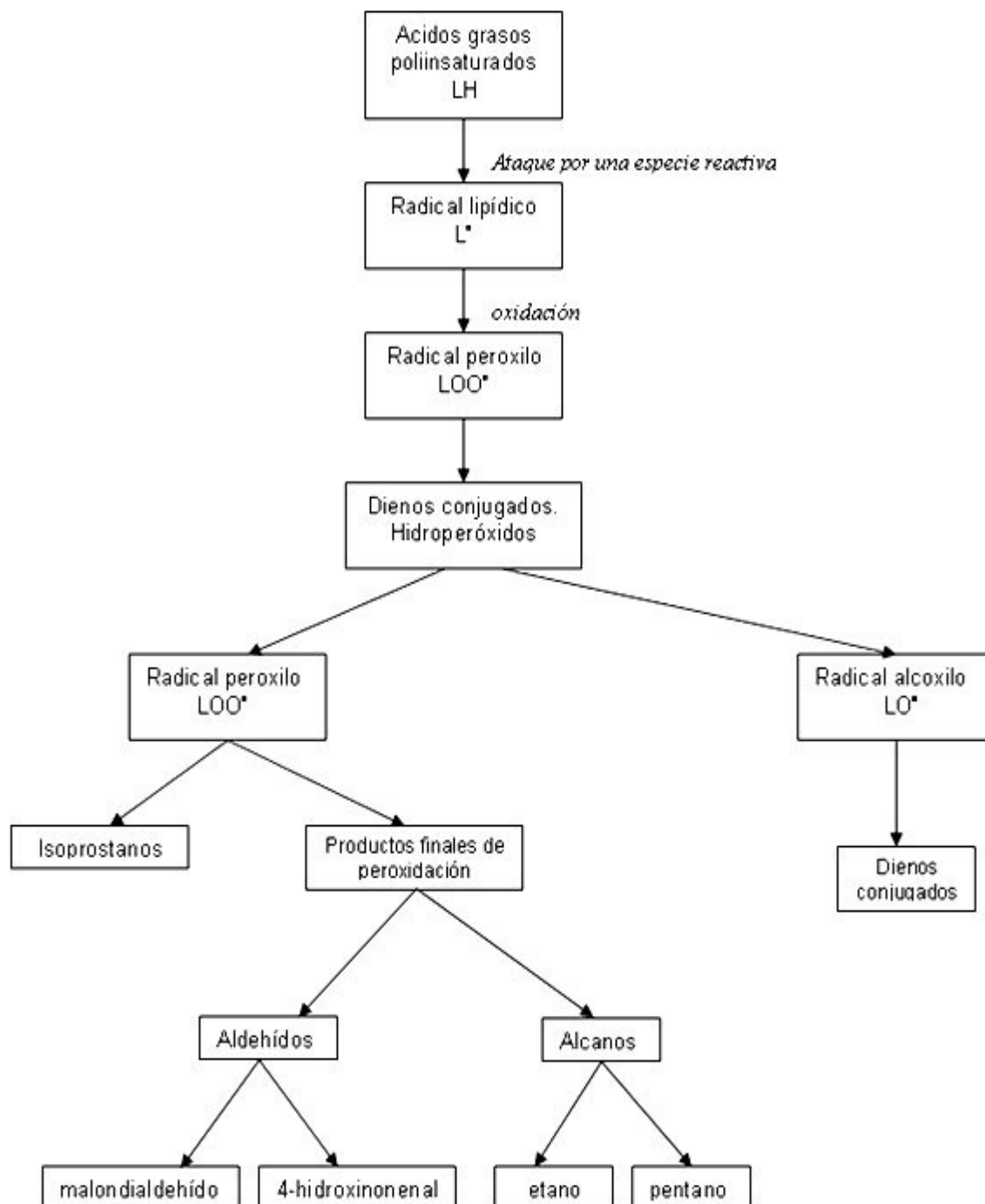
Anexo III

Flujograma del diseño experimental



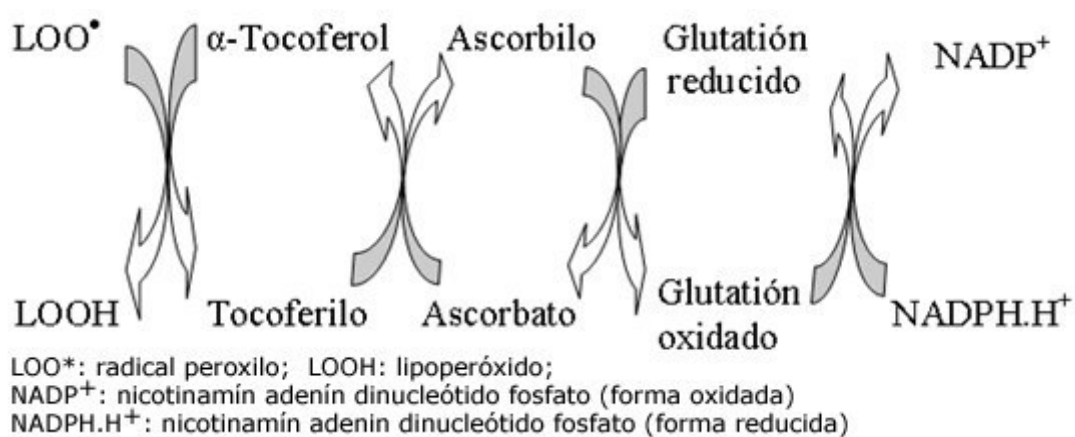
Anexo IV

Mecanismo de la peroxidación lipídica. Los ácidos grasos poliinsaturados se oxidan en presencia de radicales libres.



Anexo V

Accion del tocoferol sobre peroxilos lipidicos y su regeneracion en presencia de
ascorbato y glutatión reducido



Anexo VI

Taxonomía del *Corryocactus brevistylus*

Anexo VII

Fotografías de la recolección del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky)



Arriba: Carretera hacia la región de Moquegua, a 30 km del distrito de Puquina, Provincia General Sánchez Cerro.

Abajo: Fotografía panorámica del valle de Puquina



Floración y tallos del
Corryocactus brevistylus



Hábitat de la planta de
Corryocactus brevistylus,
en el valle de Puquina.



Fruto de *Corryocactus
brevistylus* (sanky) lleno
de espinas.





Extracción del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky).



Limpieza de espinas del fruto de *Corryocactus brevistylus* (sanky).



Recolección de los frutos de *Corryocactus brevistylus* (sanky), en el valle de Puquina.